

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛПС N.MENINGITIDIS И E.COLI

Сачек М.М., Мяделец О.Д.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

В клинике инфекционных болезней одним из ведущих синдромов является синдром интоксикации (2,3,5,6). Именно он определяет тяжесть течения инфекционного процесса, его прогноз и исход. Несмотря на значительное число уже сейчас известных факторов патогенности возбудителей инфекционных заболеваний, только бактериальные эндотоксины в настоящее время рассматриваются как индукторы развития интоксикации (2,3). Проведенные исследования убедительно показали вовлеченность в патофизиологические процессы интоксикации практически всех органов и систем организма при эндотоксинемии. Причиной этого служит широкий спектр биологической активности ЛПС. Однако, мультисистемность изменений при эндотоксинемии не является только следствием непосредственного взаимодействия ЛПС с различными органами и системами организма. Свое влияние на них ЛПС может оказывать и через систему медиаторов (9,10,11,12).

Цель исследования - установление патоморфологических и гистохимических изменений в головном мозге при локальном и системном введении ЛПС N.meningitidis и E.coli

Методы. Экспериментальные исследования проводились на белых беспородных крысах. Для создания модели использовали в/венное и интрацистернальное введение ЛПС E.coli и N.meningitidis (7, 8, 9, 10). Экспериментальные исследования проведены на 83 животных (контроль - n=35). ЛПС E.coli (n=24) и N.meningitidis (n=24).

ЛПС E.coli или N.meningitidis вводили в боковую вену хвоста однократно в дозе 5мг/кг. Декапитацию животных производили через 6 и 18 часов. Интрацистернальное введение осуществляли под легким нембуталовым наркозом. Вводили 200 мкг ЛПС E.coli или N.meningitidis. Декапитировали животных через 6 и 18 часов.

При гистологических исследованиях оценивали степень полнокровия сосудов мозговой оболочки и головного мозга, наличие диапедеза эритроцитов и периваскулярных лимфоидных и полинуклеарных инфильтратов, степень выраженности периваскулярных и перицеллюлярных пространств ("пустот"), наличие которых является свидетельством отека мозга. Оценивали степень развития хроматолиза.

Для гистoenзимологических исследований использовали криостатные срезы. Активность НАДФН-диафоразы (НАДФН-тетразолийредуктазы) выявляли по методу Нахласа и соавт. (1).

Активность фермента оценивали в эндотелии кровеносных сосудов серого и белого вещества коры мозга и сосудистой оболочки мозга, в нейронах и клетках нейроглии.

Результаты. У контрольных животных, которым вводили в/венно физиологический раствор, нейроны сенсомоторной коры имели обычное строение. При окраске по Нисслю в перикарионе нейроцитов выявлялась интенсивно окрашенная хроматофильная субстанция. Перицеллюлярные и периваскулярные пустоты практически отсутствовали. Сосудистая оболочка мозга имела обычное строение и кровенаполнение.

Через 6 часов после введения ЛПС *N.meningitidis* в головном мозге у животных выявлялось полнокровие сосудистой оболочки мозга и выраженный диапедез эритроцитов. В головном мозге были резко расширены периваскулярные, а во многих случаях и перицеллюлярные пространства, что приводило к деформации и пикнотизации нейроцитов. В половине случаев вокруг сосудов коры на уровне пирамидного слоя и ниже наблюдались небольшие лимфоцитарные инфильтраты. Некоторые глиоциты приобретали звездчатую форму. Во многих нейронах коры имел место субтотальный хроматолиз.

Через 18 часов после введения ЛПС *N.meningitidis* морфологические изменения в целом напоминали таковые при 6 часовой продолжительности эндотоксинемии. Кроме того, у животных этой группы в головном мозге отмечалось появление микрополостей, вокруг которых в большинстве случаев отсутствовали воспалительные изменения. Однако, встречались зоны, когда в окружности полости наблюдались лимфоидные инфильтраты.

Через 6 часов после внутривенного введения ЛПС *E.coli* отмечалось резкое полнокровие кровеносных сосудов мягкой мозговой оболочки с участками разрывов и кровоизлияний в молекулярный слой коры. Сосуды тканей мозга напротив были спавшимися, окруженными очень широкими пустыми участками, что свидетельствует об отеке мозга. Большинство из них были практически полностью дезэндотели-

зированы из-за десквамации эндотелия. В молекулярном слое наблюдались участки микронекрозов. В более глубоких слоях выявлялись участки апоптоза нейроцитов. В преобладающем большинстве нейронов отмечался выраженный хроматолиз.

Через 18 часов после моделирования эндотоксинемии изменения в головном мозге имели несколько менее выраженный характер, чем в группе животных, декапитированных через 6 часов с момента внутривенного введения ЛПС *E.coli*. В значительной части сосудов отсутствовала дезэндотелизация сосудов мозга, в коре практически отсутствовали микронекрозы.

Учитывая то обстоятельство, что интрацистернальное введение ЛПС проводилось под легким наркозом, в качестве контрольных групп использовали: а) животных, которые были подвергнуты только наркотизации; б) животных, которым на фоне наркоза интрацистернально вводили физиологический раствор.

У контрольных животных, подвергнутых наркотизации, в головном мозге выявлялось некоторое полнокровие сосудов сосудистой мозговой оболочки без каких-либо изменений в мозговой ткани. Практически отсутствовали какие-либо изменения и в контрольной группе, животным которой интрацистернально вводили физиологический раствор.

Через 6 часов после интрацистерального введения ЛПС *N.meningitidis* характер патоморфологических изменений в головном мозге существенно не отличался от такового при внутривенном введении, однако степень выраженности изменений была большей. Сосуды сосудистой оболочки были резко расширены и полнокровны. Во многих сосудах наблюдался диапедез эритроцитов. В нейронах отмечался хроматолиз, иногда выраженный. Во многих нервных клетках происходило исчезновение ядрышек.

Морфологические изменения в головном мозге животных через 18 часов после интрацистерального введения ЛПС *N.meningitidis* были следующими. Отмечалось резкое расширение сосудов мягкой мозговой оболочки и мозга с диапедезом эритроцитов из сосудов мозговой оболочки. Наблюдался хроматолиз в нейронах коры, расширение паравазальных и паранейрональных зон.

Через 6 часов после интрацистерального введения ЛПС *E.coli* у животных обнаруживалось полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, хориоидных сплетений и некоторых сосудов мозга. Многие сосуды мозга были дезэндотелизированными. Наблюдался пикноз и хроматолиз во многих нейронах. Кроме того, выявлялись участки

микронекрозов мозга с образованием небольших полостей. Встречались небольших размеров лимфоидные инфильтраты.

Через 18 часов после интрацистерального введения ЛПС морфологические изменения в мозге соответствовали таковым через 6 часов. У животных обнаруживалось полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, хориоидных сплетений и некоторых сосудов мозга. Многие сосуды мозга были дезэндотелизированными. Наблюдался пикноз и хроматолиз во многих нейронах. Кроме того, выявлялись участки микронекрозов мозга с образованием небольших полостей. Встречались небольших и средних размеров лимфоидные инфильтраты. Во всех препаратах по всей массе мозга выявлялись достаточно крупные полости, не имеющие специальной выстилки, а ограниченные иногда разрушающимися нейронами. В полостях иногда встречались эритроциты, обломки клеток и клеточный детрит. Также характерным признаком было отсутствие в полостях воспалительных явлений. В некоторых случаях было видно, как полости небольших размеров сливались друг с другом с образованием полостей больших размеров и сложной конфигурации. Иногда создавалось впечатление, что полости формируются вокруг разрушенных микрососудов и мозговой ткани вокруг них. Во многих нейронах отмечался пикноз и хроматолиз.

Результаты экспериментальных исследований позволяют говорить о зависимости патоморфологических изменений в головном мозге на ранних стадиях эндотоксинемии и эндотоксинрахии от вида ЛПС. Эти данные согласуются с клиническими проявлениями заболевания: так наиболее остро заболевание протекает при генерализованной менингококковой инфекции (5, 6). Характер патоморфологических изменений свидетельствует о том, что клетки мозга гибнут как через некроз (очаги некроза), так и апоптозом. Индукторами апоптоза нейроцитов могут быть окислительный стресс, индукция NF-kB, активация сфингомиелинового цикла, индукция iNOS и NO (4). Экспрессия m-PHK iNOS может происходить под действием различных факторов, в том числе ЛПС, TNF-1 α , IL-1 β .

С этой целью нами проведено изучение гистохимического маркера iNOS - НАДФН диафоразы в эндотелии, нейронах и глии при эндотоксинемии.

У контрольных животных, получавших в/венно физиологический раствор, умеренная и низкая активность фермента выявлялась в эндотелиоцитах микрососудов белого и серого вещества мозга, а также в мелких клетках, очевидно, глиальных. Лишь единичные нейроны коры давали позитивную реакцию на фермент, причем, окрашивалась

перинуклеарная зона клеток. Через 18 часов после введения ЛПС E.coli активность фермента в эндотелиоцитах сосудов коркового и мозгового вещества существенно возрастала. Такое же увеличение отмечалось и в глиоцитах, тогда как в нейронах активность фермента увеличилась в меньшей степени.

Выводы.

1. Более выраженные изменения в головном мозге возникают при интрацистерном введении как ЛПС N.meningitidis, так и E.coli, в сравнении с в/венным.

2. При одинаковом способе введения ЛПС, в головном мозге возникают однотипные изменения, но степень их выраженности зависит от ЛПС: более выраженные изменения имели место при введении ЛПС N.meningitidis, что четко прослеживалось через 18 часов наблюдения, особенно при моделировании эндотоксинемии.

3. При эндотоксинемии происходит активация iNOS в ЦНС, особенно в эндотелии сосудов и глии. Учитывая, что NO может выступать в качестве повреждающего фактора, особенно в сочетании с радикалами кислорода, можно говорить о его патогенетической роли в головном мозге при эндотоксинемии.

Литература:

1. Берстон Н.М. Гистохимия ферментов. - М Мир, 1965 - 454с
2. Волчкова Е.В. Иммуно-адаптационные механизмы при развитии интоксикационного синдрома у больных вирусными гепатитами: Дис. ... д-ра мед. наук - М., 1999 - 240с.
3. Пак С.Г., Малов В.А. Проблема синдрома интоксикации в инфекционной патологии. //Патогенез, иммунология, клиника и диагностика инфекционных болезней.-М.: Медицина, 1992.-С.55-62.
4. Рожнова У.А., Алексеенко А.В. Функциональная активность фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) в центральной нервной системе. //Нейрохимия. - 1999.-Т 16.-№2 -С.118-132.
5. Руководство по инфекционным болезням./Под ред. Ю.В Лобзина и А.П Казанцева. - СПб: ТИТ Комета, 1996. - 720с
6. Сорокина М.Н., Иванова В.В., Скрипченко Н.В. Бактериальные менингиты у детей. - М.: Медицина, 2003 - 320С.
7. Boje K.M. Cerebravascular permeability changes during experimental meningitis in the rat.//J.Pharmacol.Exp.Ther.-1995.0Vol.274.-N 3 -pp.1199-1203
8. Jaworowicz D.J., Korytko P.J., Singh-Lakhman S. et.al. Nitric oxide and prostaglandin E2 formation parallels blood-brain barrier disruption in an experimental rat model of bacterial meningitis. //Brain Res.Bull. - 1998 - Vol 46.-№6 - pp 541-546
9. Kim K.S., Wass C.A., Cross A.S Blood-brain barrier permeability during the development of experimental bacterial meningitis in the rat //Exp. Neurol.-1997 - Vol.145.-№1. - pp 253-257.
10. Nakayama I., Akieda Y., Murata I., Yamaji E. Multiple organ failure due to experimental endotoxemia in animal model.// Journal of Endotoxin research.-1996.-Vol.3 (supp.1).-pp.18

11 Nathan C., Xie Q-W , Parratt J R. Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia.//J. Antimicrobial Chemotherapy.-1998.-Vol.41.(suppl.A).-pp.31-39.

12.Sigal L.H., Ron Y Immunology and inflammation : basic mechanisms and clinical consequences. - New York.: McGRAW-HILL, INC.,1994 - 805 p.